云 南 植 物 研 究 2003，25（5）：563～571
Acta Botanica Yunnanica

栌菊木的等位酶分析及其在生物地理和保护生物学上的意义*

彭玉兰，胡运乾，孙 航**
（中国科学院昆明植物研究所，云南 昆明 650204）

摘要：对我国西南特有的菊科单种属植物栌菊木 10 个居群、149 个个体、11 个酶系统及 16 个酶位点的水平淀粉凝胶电泳分析表明，栌菊木的遗传多样性水平在特有种中较高，在居群水平上，平均每个位点的等位基因数 $A = 1.1 \sim 1.4$，多态位点百分数 $P = 6.3\% \sim 43.8\%$，实际杂合度 $H_o = 0.063 \sim 0.250$，期望杂合度 $H_e = 0.043 \sim 0.194$；物种水平上 $A = 1.6$，$P = 37.5\%$，$H_o = 0.143$，$H_e = 0.141$。居群间遗传一致度 $I = 0.902 \sim 1.000$，杂合性基因多样度比率 F_{ST}为 0.2395。栌菊木居群间分化程度较大，云南南盘江流域碧云寺居群遗传多样性较低，明显低于金沙江流域的居群。栌菊木可能是来自冈瓦纳古陆祖先的后裔，可能是古地中海退却以后在金沙江干热河谷分化出来的特有属，并且可能由于湿度等生态因子的限制，其分布区未能进一步扩大，仅在南盘江流域形成零散分布。等位酶分析结果还表明栌菊木遗传多样性总体水平较高，建议对遗传多样性较高的金沙江流域的居群加以保护。

关键词：栌菊木属；等位酶；生物地理；保护生物学
中图分类号：Q 943 **文献标识码**：A **文章编号**：0253－2700（2003）05－0563－09

Allozyme Analysis of *Nouelia insignis* and Its Significance on Biogeography and Conservation Biology

PENG Yu-Lan，HU Yun-Qian，SUN Hang**
（*Kunming Institute of Botany*，*Chinese Academy of Sciences*，Kunming 650204，China）

Abstract：Allozyme analysis of *Noulia insignis*，which is a rare species and monotypic genus endemic to southwestern China，was carried out with 149 individuals in 10 populations，throughout the entire distribution of the species by means of horizontal starch gel electrophoresis technique. Eleven enzyme systems and 16 loci are studied. The results showed that genetic diversity was relatively high in population level as an endemic species（$A = 1.1 - 1.4$，$P = 6.3\% - 43.8\%$，$H_o = 0.063 - 0.250$，$H_e = 0.043 - 0.194$）. And at species level it was higher（$A = 1.6$，$P = 37.5\%$，$H_o = 0.143$，$H_e = 0.141$）. Genetic identity be-

* 基金项目：中国科学院知识创新重要方向项目（KSCX2－SW－123；KSCX2－1－06B），国家自然科学基金（30270121，39770065，39930020），云南省自然科学基金（99C0073M）
** 通讯作者 E－mail：sunhang@public.km.yn.cn
收稿日期：2002－12－06，2003－05－27 接受发表
作者简介：彭玉兰（1976－）女，硕士，主要从事植物分类和植物地理研究。现在工作单位：中国科学院成都生物研究所。

tween populations ranges from 0.902 to 1.000. F_{ST} (0.2395) indicates genetic differentiation among populations is high. The genetic diversity of Biyunsi population of Nanpan River valley, SC Yunnan is lower than that of Jinsha River valley N & NW Yunnan. Ecological factors especially humidity may be one reason that restrict the distribution of *Nouelia* and influence its genetic differentiation. *Nouelia* was probably a descendant from Gondwana, it was differentiated from diploid ancestor after Tethys retreat in Jinsha (Yangtze) River Valley, only a few scattered population dispersal to Nanpan River (SC Yunnan). But it could not further expand the distribution area for some restrictive ecological factors such as humidity. The results also showed that genetic diversity of *Nouelia insignis* as a whole is high. Furthermore, the results suggested that the populations of Jinshan (Yangtze) River, which have higher genetic diversity, should be further protected.

Key words: *Nouelia*; Allozyme; Biogeography; Conservation biology

栌菊木（*Nouelia insignis*）是菊科单种属植物，仅分布于金沙江流域及南盘江流域。栌菊木为小乔木或大灌木，叶背通常被厚绒毛，花常单生枝顶，白色。花粉为长球形，极面观为圆角三角形，大小通常为 71.8 × 48 μm，外壁具小刺状纹饰（应俊生和张玉龙，1994）；染色体为 $2n = 54$，笔者把染色体基数判断为 x = 9，推出该种为六倍体（彭玉兰等，2002）。一个属的染色体基数通常是指在已知染色体数目的类群里，在所有种的各种情况下都可用作单倍体（一套染色体组）的那个数目，通常是染色体最少的那个种的配子体的染色体数目，在栌菊木属中，n = 27 = x，所以该种应该是二倍体，把所谓原始基数 9 作为判断染色体倍性的染色体基数是错误的，在此予以更正。栌菊木喜生于干热河谷地区的杂木林下、灌丛、林缘或沟边；海拔常在 1 600 ~ 2 200 m 间。由于该类群在系统上较为孤立，又是西南金沙江及南盘江流域特有的单种属，吴征镒（1979）、李恒（1995）、武素功和李沛琼（1986）等在有关的植物区系地理讨论中，均提及该属，因此在植物地理上有着特殊的研究价值，但目前国内外尚末见到对于该属的遗传多样性研究。

等位酶分析目前已广泛的用来评估植物居群间和居群内的遗传多样性（Hamrick and Godt，1989），在居群生物学和生物地理学等方面的研究中也发挥了重要作用（Gottlieb and Higgins，1977；葛颂，1994），近年来等位酶分析在生物地理学中有巨大的应用潜力。一些相关的研究如 Fritsch（1996），Randall（1992），Crawford 等（2001）更显示了等位酶分析是现代保护生物学、物种生物学和生物地理学研究的重要手段。本研究拟通过对我国西南特有的单种属栌菊木的等位酶分析，一方面增加我们对栌菊木的遗传结构的了解，为保护生物学提供理论依据，另一方面也为其起源及现代地理分布格局的形成提供相应的证据。

1 材料与方法

根据随机取样的原则，植株间相距 20 m 以上，在栌菊木分布范围内的云南大姚县及四川攀枝花等 10 个居群取得年龄相当的 149 株个体，具体地点见表 1，其地理分布状况见图 1，在虎跳峡等地，由于人为破坏严重，仅取得少量个体。活材料栽培于中国科学院昆明植物所植物园，凭证标本存于中国科学院昆明植物研究所标本馆（KUN）。酶液的提取：取幼嫩植株叶片，加提取缓冲液 Tris-HCl（pH 7.5），在比色盘中研磨，用纸芯子浸取酶液，立即上样电泳。电泳采用水平切片淀粉凝胶电泳法。淀粉配方：7.5%马铃薯淀粉，4.5%可溶淀粉，1%琼脂糖，3%蔗糖。凝胶电泳缓冲液系统见表 2。在 4℃冰箱中，用 300 伏左右稳压电泳 4.5 h。酶的提取、电泳、染色及酶位点、等位基因的确定参照王中仁（1996）的方法。数据

处理用 Biosys-2 软件处理。遗传多样性以 Nei（1978）多态位点比率（P）、等位基因平均数（A），平均期望杂合度（H_e）和观察度（H_o）来度量。聚类分析采用不加权对儿平均聚类分析法（UPGMA）。用 Wright（1978）的杂合性基因多样度比率 F_{ST}（与 Nei 的 G_{ST} 相当）以及遗传一致度（I）来衡量居群间的分化。

表 1　实验材料来源

Table 1　Sampling localities

	产地 locality	海拔/m altitude	个体数 number	凭证标本 voucher
1	元谋凉山 Liangshan，Yuanmou	1977	8	彭玉兰 270
2	中甸虎跳峡 Hutiaoxia，Zhongdian	1988	5	彭玉兰 311
3	攀枝花平地 Pingdi，Panzhihua	1770	10	彭玉兰 316
4	大姚三岔河 Sanchahe，Dayao	1540	22	彭玉兰 292
5	华坪石龙坝 Shilongba，Huaping	1130	20	彭玉兰 297
6	永胜松坪 Songping，Yongsheng	1572	21	彭玉兰 296
7	鹤庆北衙 Beiya，Heqing	1988	11	彭玉兰 312
8	大姚江底 Jiangdi，Dayao	1540	18	彭玉兰 272
9	大姚石羊 Shiyang，Dayao	1684	12	彭玉兰 291
10	江川碧云寺 Biyunsi，Jiangchuan	1988	22	彭玉兰 367

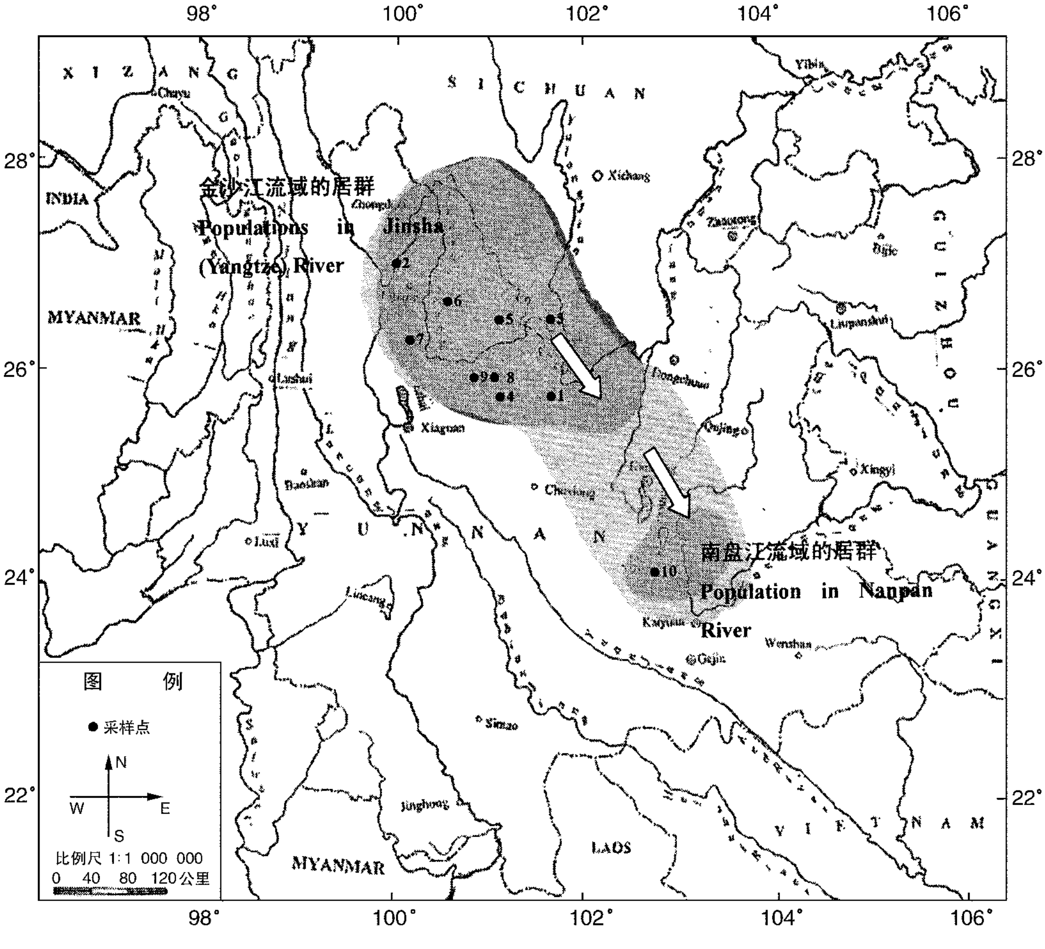

图 1　栌菊木的地理分布及迁移方向（据等位酶资料）

Fig. 1　Dispersal direction and distribution of *Nouelia*（according to allozyme data）

表 2　缓冲液系统

Table 2　Buffer system

电泳缓冲液 electrode buffer	凝胶缓冲液 gel buffer
# 1　0.5 mol/L Tris，0.2 mol/L boric acid，0.008 mol/L EDTA，pH 6.5，H_2O 1000 ml	250 ml eletrode buffer，H_2O 750 ml
# 2　0.04 mol/L cirtic acid，N -(3-aminopropyl)-morpholine adjust pH 6.0，H_2O 1000 ml	electrode buffer：H_2O = 1∶19

Buffer system # 1，王中仁（1996）# 10 稍做修改；Buffer system # 2，王中仁（1996）# 12 稍做修改

表 3　电泳所检测的酶系统、凝胶缓冲液系统和位点数目

Table 3　The enzyme system and electrophoresis data and loci number

酶系统名称 Enzyme system	缩写 Abbreviation	酶代码 EC no.	缓冲液系统 Buffer system	位点数目 Loci number
天冬氨酶转氨酶 Aspartateaminotransferase	AAT	2.6.1.1	# 1	1
磷酸葡萄糖异构酶 Phosphoglucoisomerase	PGI	5.3.1.9	# 2	2
氨基肽酶 Aminopeptidase	AMP	3.4.11.1	# 1	1
苹果酸脱氢酶 Malate dehydrogenase	MDH	1.1.1.37	# 2	2
苹果酸酶 Malic enzyme	ME	1.1.1.40	# 1	1
过氧华氢酶 Catalase	CAT	1.11.1.6	# 1	1
超岐氧化物酶 Superoxide dismutase	SOD	1.15.1.1	# 1	1
莽草酸脱氢酶 Shikimate dehydrogenase	SKD	1.1.1.25	# 2	1
异柠檬酸脱氢酶 Isocitrate dehydrogenase	IDH	1.1.1.42	# 2	1
6 – 磷酸葡萄糖脱氢酶 Phosphogluconatedehydrogenase	PGD	1.1.1.44	# 2	3
磷酸丙糖异构酶 Triose-phosphate isomerase	TPI	5.3.1.1	# 1	2

2　结果分析

参照菊科 *Ainsliaea*（Watanabe 等，1992）和 *Antennaria*（Randall，1992）的等位酶分析结果并结合酶谱的分离规律进行分析。酶电泳图谱见图 2。在所分析位点中，*Amp*-1，*Skd*-1，*Idh*-1，*Pgi*-2，*Sod*-2，*Sod*-3 为单态位点，*Aat*-1，*Tpi*-1，*Tpi*-2，*Sod*-1，*Cat*-1，*Pgd*-1，*Pgd*-2，*Mdh*-1，*Mdh*-2 为多态位点。*Aat*-2 不清晰，不予以分析。各个位点的遗传多样性变异见表 4。遗传一致度（遗传相似度）与遗传距离矩阵见表 5。

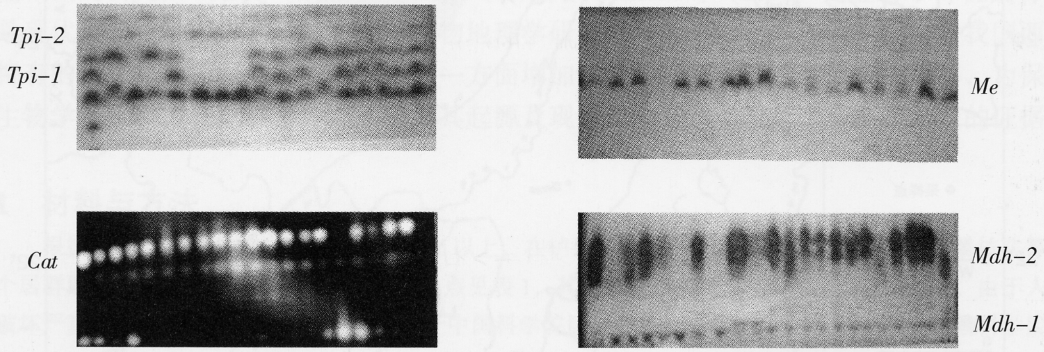

图 2　栌菊木的 4 种酶谱系统电泳图和遗传学解释

Fig. 2　Zymograms of four enzyme systems of *Nouelia* and genetic explanation

表 4　17 个位点的遗传变异

Table 4　Genetic variability at 17 loci in all populations

居群	N	A	P	H_o	H_e
1．凉山 Liangshan	8	1.4	37.5	0.211	0.153
2．虎跳峡 Hutiaoxia	5	1.4	37.5	0.250	0.194
3．平地 Pingdi	10	1.4	43.8	0.187	0.141
4．三岔河 Sanchahe	22	1.3	25.0	0.102	0.080
5．石龙坝 Shilongba	20	1.4	25.0	0.150	0.137
6．松坪 Songping	21	1.4	31.3	0.152	0.120
7．北衙 Beiya	11	1.4	25.0	0.244	0.184
8．江底 Jiangdi	18	1.2	18.8	0.115	0.073
9．石羊 Shiyang	12	1.4	31.3	0.156	0.137
10．碧云寺 Biyunsi	21	1.2	6.3	0.063	0.043
物种 Species	149	1.6	37.5	0.143	0.141

N 个体数，A 平均每个位点等位基因数，P 多态位点比率（0.95），H_o实际杂合度，H_e期望杂合度

表 5　遗传相似性和遗传距离矩阵

Table 5　Matrix of genetic similarity and distance coefficients

P	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	*****	.007	.000	.023	.048	.056	.000	.018	.017	.038
2	0.993	*****	.034	.052	.050	.061	.000	.066	.022	.050
3	1.000	.966	*****	.008	.031	.037	.012	.001	.020	.049
4	.978	.949	.992	*****	.023	.029	.029	.013	.013	.037
5	.953	.951	.969	.977	*****	.008	.035	.035	.024	.099
6	.946	.941	.964	.972	.992	*****	.039	.037	.045	.104
7	1.000	1.000	.988	.971	.966	.962	*****	.035	.013	.044
8	.982	.936	.999	.987	.965	.963	.966	*****	.039	.078
9	.983	.978	.980	.987	.976	.956	.987	.962	*****	.034
10	.963	.951	.952	.963	.906	.902	.957	.925	.966	*****

Below diagonal：Nei（1978） unbiased genetic identity. Above diagonal：Nei（1978） unbiased genetic distance. P 代表居群 population，具体数字编号代表一对应居群，具体地点与表 4 一致

表 6　所有位点的 F—统计

Table 6　Summary of F-statistics at all loci

Locus	F_{IS}	F_{ST}	F_{IT}
Aat-1	1.0000	.0395	1.0000
Mdh-1	–.5586	.5483	.2959
Mdh-2	–.6923	.3250	–.1423
Pgd-2	–.1765	.1414	–.0102
Me-1	1.0000	.0436	1.0000
Sod-1	–1.0000	.0000	–1.0000
Cat-1	–.3612	.2962	.0420
Tpi-2	.8963	.1949	.9165
Tpi-1	–.1160	.1399	.0401
Mean	–.3343	.2395	–.0147

表 4 的结果显示各个居群的多态性差别大，多态位点百分数 P 在 43.8% ~ 6.3% 之间变化，南盘江流域的江川碧云寺（6.3%）明显低于平均水平，远低于金沙江流域的居群。杂合度的平均观察值 $H_o = 0.063 \sim 0.250$，杂合度的期望值 $H_e = 0.043 \sim 0.194$，杂合度的平均期望值与观察值存在较大的差异。杂合度的大小关系为虎跳峡 > 北衙 > 凉山 > 平地 > 石羊 > 石龙坝 > 松坪 > 江底 > 碧云寺。杂合度能反映等位基因的丰富程度；可见，等位基因丰富程度在各居群间存在较大的差异，江川碧云寺的等位基因丰富程度低，只有 0.063。对多态位点百分数等各个遗传指标的综合分析，表明南盘江流域的江川碧云寺这个居群的遗传多样性较低，而金沙江流域的居群则较高。

从表 5 可以看出，栌菊木居群间的遗传一致度较高，在 0.902 ~ 1.000 之间。元谋凉山

与攀枝花平地，北衙与元谋凉山、虎跳峡的遗传一致度为 1，江底与攀枝花的遗传一致度为 0.999，虎跳峡与攀枝花平地的遗传一致度为 0.993，江川碧云寺与永胜的相似性最低的为 0.902，与石龙坝，江底的相似性也较低。根据表 5 的数据进行聚类分析（图 3）。说明遗传一致度在不同居群间有较为明显的差异，总的来看，南盘江流域的江川碧云寺与金沙江流域的多数居群之间的遗传一致度较低，金沙江流域各居群间的遗传一致度较高。

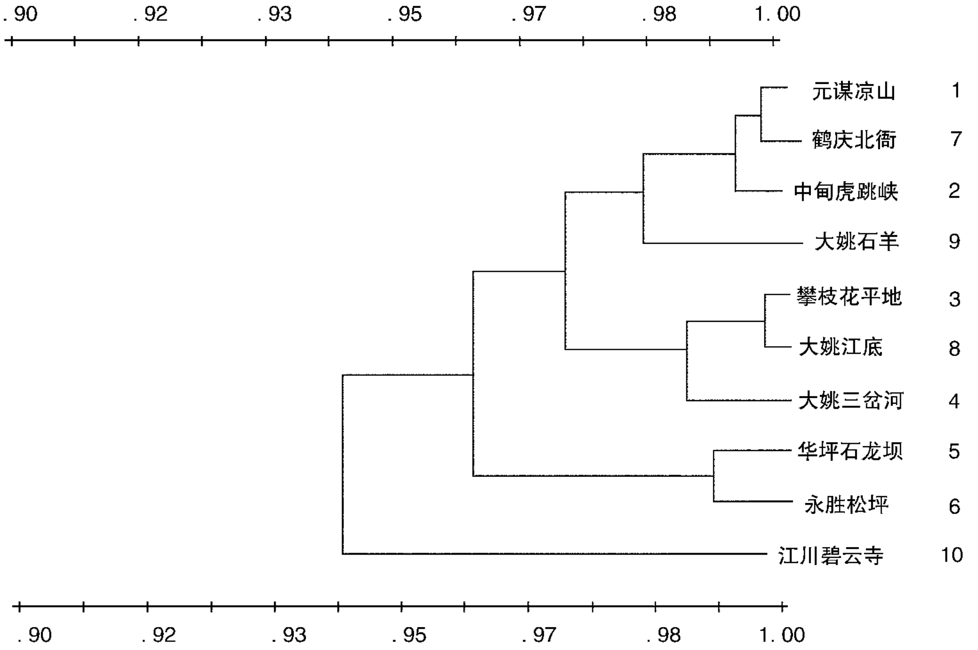

图 3　居群间的遗传相似性图

Fig. 3　Phenogram of genetic similarity for 10 populations

固定指数 $F_{ST} = 0.2395$，表明 23.95% 的遗传变异发生在群体间；F_{IS} 的平均值为 -0.3343（多数 F_{IS} 为负数），表明实际的等位基因频率偏离哈迪－温伯格平衡，为非随机交配群体，杂合体较多，为进一步探讨栌菊木的繁育系统提供了理论依据。

3　讨论

3.1　遗传多样性

栌菊木为中国金沙江干热河谷特有的多年生灌木，由蜂等动物传粉，种子主要依靠风力传播。据 Hamrick 等（1990）统计，在物种水平上，特有种多态位点百分数 40%，长寿多年生木本的多态位点百分数为 61.7%，在居群水平上，特有种的多态位点百分数为 26.3%，长寿多年生木本的多态位点百分数为 50%，特有种的基因分化系数为 0.248，长寿多年生木本为 0.076，风力传播种子的植物为 0.143，温热带植物为 0.233，动物传粉的植物为 0.216。本研究结果表明：在物种水平上，栌菊木多态位点百分数 $P = 37.5\%$，稍小于 Hamrick 等（1990）统计的特有种的多态位点百分数，也就说栌菊木的多态位点百分

数在特有种属于正常水平。在居群水平上，金沙江流域除了三岔河、江底、永胜 3 个居群外，都高于特有种的多态位点百分数，而南盘江流域的江川碧云寺 6.3%则远低于特有种的多态位点百分数。$F_{ST}=0.2395$，表明 23.95%的遗传变异发生在群体间，接近特有种的基因分化系数，远大于长寿多年生木本植物的基因分化系数，也大于风力传播种子的植物，温热带植物、动物传粉的植物。Wright（1931）指出当基因流值 $N_m<1$，基因流传是遗传分化的主要原因；栌菊木的 $N_m=1-F_{ST}/4F_{ST}=0.79<1$，说明栌菊木遗传分化的主要原因是基因流。各居群间的基因交流少或基因流传受阻，所以各个居群间的遗传分化大。除了距离上的原因外，据野外观察，金沙江流域与南盘江流域的物候不同，栌菊木在金沙江流域刚处于花期时，南盘江流域则种子已基本成熟。这也限制了它们之间的基因交流，导致二者之间的遗传分化。

Crawford 等（2001）研究表明较高的遗传多样性往往出现在较大的居群中，而零星分布和较小的居群则表现了较低的遗传多样性；本研究也支持这一结论；栌菊木在金沙江流域的居群大，个体数量多，遗传多样性也较高；而在南盘江流域仅零星分布（图 1），其遗传多样性也较低。从栌菊木的遗传多样性特点上看，遗传多样性水平在特有种较高，不会导致濒危。现在种群下降的原因是外界因素，如生境的破坏，过度砍伐等。因此在对栌菊木的保护上首先应该就地保护，保护其栖生地和生态环境；在对物种的保护上应优先对遗传多样性高的居群如金沙江干热河谷的居群进行保护，同时由于栌菊木的居群间遗传分化较大，单个居群的灭绝将导致遗传多样性较大的损失，应对个体数量较少的居群加强保护。

3.2　生物地理意义

栌菊木是金沙江干热河谷的标志性种，金沙江流域是其分布中心，也是多度中心；南盘江流域则是其分布区边缘，个体数量和居群较小。

金沙江河谷与南盘江流域在温度、湿度、气候、地形等生态因子存在差异。金沙江河谷地区的年均温在 20℃以上，降雨量低于 750 mm，为高山峡谷地貌，形成明显的干热气候。而南盘江流域的年降水量 1 000 ~ 1 100 mm，5 ~ 10 月为雨季，湿度大，约占全年降水量的 88%，11 月到次年 4 月为干季；其石灰岩地貌发育，明暗河交替（陈永林，1998），显然不及金沙江河谷干燥。据笔者种子萌发实验观察，表明栌菊木的种子无休眠期，萌发率高，种子萌发速度快，一周后即有种子开始萌发，但如若湿度过大，幼苗会因根系腐烂而死亡。在南盘江流域的雨季，湿度大，栌菊木的种子成熟后，即萌发，由于湿度过大，幼苗存活率低，栌菊木的种群受到限制，仅零散的生长在向阳的坡面，这种选择压力甚至可能对酶位点发生作用，导致居群间的遗传分化。已有等位酶实验表明，遗传分化可能受温度、湿度、土壤性质、气候因子、地形、甚至坡向等生态因子影响（Nevo 等，1988）。因而生态因子特别是湿度可能是影响栌菊木扩散和遗传分化的原因之一。

通过种内和居群间在空间上的等位酶变异大小的比较，可推断居群间的历史情况、迁移方向。散布出去的居群的遗传结构往往比原来的居群单调，具有较少的等位基因或杂合性（Murphy 等，1990）。显然，金沙江流域是栌菊木的遗传多样性中心，南盘江流域的居群则遗传结构较简单，由此我们可以推测南盘江流域的居群可能由金沙江流域扩散而来。这为理解栌菊木的遗传分化和地理分布格局提供了线索。

除了遗传和生态因素外，对栌菊木分布格局的理解，我们必需了解它的生物地理历史。由于栌菊木没有化石记录，我们只能根据其亲缘关系和地理分布，结合地理环境及时间的变化来推论它可能发生的地点和时间。从栌菊木分布中心的地质历史上看，在第三纪以前，川西南滇西北的横断山区是一南北向的大海槽，基本处于海水的淹没（古地中海）中（陶君蓉，2000）；横断山植物区系真正的开始则应是在早第三纪以后这一地区当时正处于古地中海的东岸，其区系的发展同当时古地中海植物区系的演变有着密切的关系（孙航，2002）。

武素功和李沛琼（1986）认为栌菊木是古南大陆的后裔。我国分布的帚木菊族中 *Gerbera* 属是亚洲—非洲分布，蚂蚱腿子属 *Myripnois*、栌菊木属 *Nouelia* 为我国特有属。帚木菊族的分布中心在中南美洲，帚木菊族的另一木本属—白菊木属 *Gochnatia* 主要分布于南美，另一种 *Gochnatia decora* 在印度、泰国、缅甸、越南及我国云南中南部均有分布（程用谦，1996）。因此栌菊木应该是古南大陆起源的。从散布途径上看有两种可能：一种是同印度板块的漂移有关，一些有关的研究如酸脚杆属（*Medinilla*）（陈介，1983）、金合欢属（*Acacia*）（孙航和陈介，1990）分布区的形成是印度板块同亚洲板块碰撞的结果，栌菊木的形成历史可能同这些类群有着共同的或相似的发生背景。另一种可能则是起源于古地中海南岸，在新第三纪以后，古地中海退却，现代干旱的地中海气候形成，喜马拉雅和横断山的隆升退却后在金沙江河谷一带残遗的结果，其分布格局同金沙江河谷分布的另一特有类群芒苞草属相似（吴征镒，1988；孙航，2002）。金沙江河谷的干热气候条件使得在古地中海干旱条件下分化形成的栌菊木的祖先类群得以保留，并且进一步演化扩散。

由于周边地区地形条件和生态环境因子的限制，金沙江流域的栌菊木在扩大自己的分布区上受到了限制，因此仅扩展到南盘江流域，形成少数居群的零星分布。也由于水湿条件等的影响，在南盘江流域的栌菊木居群的分化和变异受到了限制，使得第三纪以来栌菊木未能有效地扩大分布区范围，而形成今天这样的分布格局，并成为西南金沙江流域及邻近区域的特有类群，等位酶分析的结果支持了这一推论。

〔参 考 文 献〕

程用谦，1996．中国植物志 79 卷［M］．北京：科学出版社，1—73

陈永森，1998．云南省志［M］．昆明：云南人民出版社

葛颂，1994．同工酶和植物进化生物学研究．植物进化生物学［M］，武汉：武汉大学出版社，153—193

陶君蓉，2000．晚白垩纪到新生代中国植区系的演化和发展［M］．北京：科学出版社，40—126

王中仁，1996．植物等位酶分析［M］．北京：科学出版社，1—196

武素功，李沛琼，1986．川西、滇北金沙江河谷植物区系［C］．见：中国科学院青藏高原综合考察队编，青藏高原研究—横断山考察专集（2）［M］．北京：科学技术出版社，416—430

应俊生，张玉龙，1994．中国种子植物特有属［M］．北京：科学出版社，168—169

Chen J（陈介），1983．The *Medinilla* genus in China and the drift of Indian Floor［J］．*Acta Phytotax Sin*（植物分类学报），**21**（4）：416—421

Crawford DJ，Ruiz E，Stuessy TF，*et al*，2001．Allozyme diversity in endemic flowering plant species of the Juan Fernandez Archipelage，Chile：Ecological and historical factors with implications for conservation［J］．*Amer J Bot*，**88**（12）：2195—2203

Fritsch P，1996．Isozyme analysis of intercontinental，disjuncts within *Styrax*（Styracaceae）：Implications for the Madrean-Tethyan hy-

pothesis [J]. *Amer J Bot*, **83** (3): 342—355

Gottlieb LD, Higgins RC, 1977. Electrophoresis evidence and plant systematics [J]. *Ann Missouri Bot Gar*, **64**: 161—180

Hamrick JL, Godt MJ, 1989. Allozyme diversity in plant species. In: Brown AH, Clegg MT, Kahler AL. et. Al. (eds): Plant Population Genetics, Breedings, and Genetic Resources [M]. Sunderland, Mass: Sinauer, 43—63

Konrnad B, 2001. Evolution and genetic analysis of populations: 1950–2000 [J]. *Taxon*, **50** (1): 7—41

Li H (**李恒**), 1995. Discussion on floristic feature of the rare and endangered Compositae plant of China— *Nouelia insignis* [J]. *Acta Bot Yunnan* (**云南植物研究**), **17** (4): 401—404

Murphy RW, Sites JW, Buth JG, *et al*, 1990. Isozyme Electrophoresis [A]. In Hillis DM, Moritz C eds, Molecular Systematic Part II. Molecular techniques, 4. Proteins I [M]. Sunderland, Massachusetts, U. S. A: Sinauer Associates, Inc. Publishers, 45—126

Nei M, 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals [J]. *Genetics*, **89**: 583—590

Nevo E, Beiles A, Krugman T, 1988. Natural selection of allozyme polymorphisms: a microgeographic differentiation, by edaphic, topographical, and temporal factors in wild emmer wheat (Triticium dicoccoides.) [J]. *Theore and Appl Genet*, **76**: 737—752

Peng YL (**彭玉兰**), Sun H (**孙航**), Gu ZJ (**顾志建**), 2002. The cytological study on *Nouelia* and *Leucomeris* [J]. *Acta Bot Yunnan* (**云南植物研究**), **24** (1): 82—86

Randall JB, 1992. Allozyme variation, genecology, and phytogeography of *Antennaria arcuata* (Asteraceae), a rare species from the great basin and red desert with small disjunct population [J]. *Amer J Bot*, **79** (8): 872—881

Sun H (**孙航**), Chen J (**陈介**), 1990. The classification, distribution and flora origin of *Acacia* in China [J]. *Acta Bot Yunnan* (**云南植物研究**), **12** (3): 255—268

Sun H (**孙航**), 2002. Tethys retreat and Himalaya-Hengduanshan Mountains uplift and their significance on the origin and development of the Sino-Himalayan elements and Alpine flora [J]. *Acta Bot Yunnan* (**云南植物研究**), **24** (3): 273—288

Watanabe K, Yahara T, Kadota H, 1992. Natural hybrid populations between chasmogamous and cleistogamous species, *Ainsliaea faurieanea* and *A. apiculata* (Asteraceae Mutisiae) morphology, cytology, reproductive mode and allozyme variation [J]. *Pl Spec Bio*, **7**: 49—59

Wright S, 1931. Evolution in *Mendelian* population [J]. *Genetic*, **16**: 97—159

Wright S, 1978. Variability within and among natural populations. Evolution and the Genetics of Populations [M]. Chicage: University of Chicago Press, **4**

Wu ZY (**吴征镒**), 1979. The regionalization of Chinese flora [J]. *Acta Bot Yunnan* (**云南植物研究**), **1** (1): 1—22

Wu ZY (**吴征镒**), 1988. Hengduan Mountain flora and her significance [J]. *J Jap Bot*, **63** (9): 297—311